



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) **EP 1 164 184 A1**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
19.12.2001 Patentblatt 2001/51

(51) Int Cl.7: **C12C 11/00**, C12G 1/022,
C12N 9/00

(21) Anmeldenummer: **01114117.3**

(22) Anmeldetag: **11.06.2001**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE TR**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: **09.06.2000 EP 00112346**

(71) Anmelder: **Danstar Ferment AG
6304 Zug (CH)**

(72) Erfinder:
• **Burger, Karl
A-3550 (AT)**
• **Bach, Hans-Peter, Dipl.-Ing.
54295 Trier (DE)**

(74) Vertreter:
**Meyers, Hans-Wilhelm, Dr.Dipl.-Chem. et al
Patentanwälte von Kreisler-Selting-Werner
Postfach 10 22 41
50462 Köln (DE)**

(54) **Enzymmischungen enthaltend ein Enzym mit Beta-Glucanaseaktivität, ihre Verwendung zur Verminderung oder Vermeidung von Gushing**

(57) Verwendung eines Enzyms mit β -Glucanase Aktivität zur Verminderung oder Vermeidung eines spontanen Übersäumens von durch Gärungsprozesse hergestellten Erzeugnissen beim Öffnen von solche

Erzeugnisse enthaltenden Behältern. Offenbart wird ebenfalls ein Verfahren zur Herstellung von Gärungsgetränken unter Verwendung eines Enzyms mit β -Glucanaseaktivität sowie Enzymmischungen mit β -Glucanaseaktivität.

EP 1 164 184 A1

Beschreibung

[0001] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung eines Enzyms mit β -Glucanase Aktivität zur Verminderung oder Vermeidung eines spontanen Überschäumens von durch Gärungsprozesse hergestellten Erzeugnissen beim Öffnen von solche Erzeugnisse enthaltenden Behältern, ein Verfahren unter Verwendung dieses Enzyms und Gärungsgetränke erhältlich mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens.

[0002] Die WO98/03627 offenbart ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von Malz, bei dem verbesserte Eigenschaften des Produktes durch den Zusatz von aktivierten mikrobiellen Kulturen erzielt werden.

[0003] J. Enkenlund ("Externally added beta-glucanase", Process Biochemistry 1972 A/S, Grindstedvaerket, Brabrand, Denmark, Bd. 7, Nr. 8, Seiten 27-29) beschreibt eine Untersuchung, die zu dem Ergebnis kommt, dass beim Brauprozess durch den externen Zusatz von Beta-Glucanase die Filtrierbarkeit des Produkts verbessert wird.

[0004] Hinchliffe, E. ("Beta-Glucanase: the successful application of genetic engineering", Journal of the Institute of Brewing, 1985, Res. Dep., Bass PLC, 137 High Street, Burton-on-Trent, DE14 1JZ, UK, Bd. 91, Nr. 6, Seiten 384-389) beschreibt die Bedeutung von β -Glucanase im Brauprozess von Bier und untersucht die Möglichkeiten, Hefen bereitzustellen, die mehr β -Glucanase und β -Glucanase mit verbesserten Eigenschaften herstellen.

[0005] Das spontane Überschäumen von durch Gärungsprozesse hergestellten Erzeugnissen, insbesondere Sekt, beim Öffnen von diese Erzeugnisse enthaltenden Behältern ist ein Phänomen, das vom Erzeuger und Konsumenten gleichermaßen nicht erwünscht ist. Bislang hat man sich nicht in der Lage gesehen, bereits bei der Herstellung von Sekt oder Bier, Vorkehrungen zu ergreifen, die das spontane Überschäumen des Produkts unterbinden würde. Das als Gushing bezeichnete Phänomen tritt nämlich in unberechenbarer Weise auf.

[0006] Überraschenderweise wird durch die erfindungsgemäße Verwendung eines Enzyms mit β -Glucanase Aktivität das spontane Überschäumen von durch Gärungsprozesse hergestellte Erzeugnisse beim Öffnen von solche Erzeugnisse enthaltenden Behältern vermindert oder vermieden.

[0007] Vorzugsweise ist das erfindungsgemäß einsetzbare Enzym eine natürlich vorkommende oder rekombinante β -Glucanase.

[0008] Zur Steuerung des Gärungsprozesses nützliche andere Bestandteile wie andere Enzyme können weiterhin in Zusammenwirkung mit der β -Glucanase verwendet werden. So ist der zusätzliche Einsatz von weiteren Enzymen wie Pektinesterase, Polygalacturonase und/oder Pektinlyase erfindungsgemäß möglich.

[0009] Erfindungsgemäß eingesetzt wird auch eine Enzymmischung, bevorzugt enthaltend mindestens ein

Enzym mit β -Glucanaseaktivität und mindestens zwei Enzyme mit einer Aktivität ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Pektinesterase, Polygalacturonase und/oder Pektinlyase. Die Enzymmischung kann darüber hinaus auch weitere Enzyme oder andere Hilfsstoffe für die in Betracht kommenden Gärprozesse enthalten.

[0010] Die Enzymmischung kann in Tablettenform oder als Pulver oder Granulat in fester Form vorliegen. Sie kann auch in flüssiger Form zusammengestellt vorliegen.

[0011] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Verminderung oder Vermeidung eines spontanen Überschäumens von durch Gärungsprozesse hergestellten Erzeugnissen beim Öffnen von solche Erzeugnisse enthaltenden Behältern, wobei ein Enzym mit β -Glucanase Aktivität vor oder bei der Gärungsstufe einem Gärungsansatz zugesetzt wird und der Gärungsprozess in Gegenwart des Enzyms mit β -Glucanase Aktivität durchgeführt wird, woraufhin sich eine Aufarbeitung des durch den Gärprozess hergestellten Erzeugnisses in an sich bekannter Weise anschließt.

[0012] In einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens umfasst der Gärungsprozess die Gärungsstufe von Bier. Das erfindungsgemäße Verfahren ist in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform zur Herstellung von Sekt geeignet. In diesem Falle umfasst der Gärungsprozess die zweite Gärungsstufe von Wein zu Sekt. Als Enzym wird vorzugsweise natürlich vorkommende oder rekombinante β -Glucanase eingesetzt.

[0013] Neben dem Enzym mit β -Glucanaseaktivität können im erfindungsgemäßen Verfahren weitere Enzyme wie Pektinesterase, Polygalacturonase und/oder Pektinlyase eingesetzt werden.

[0014] Vorzugsweise wird das Enzym mit β -Glucanaseaktivität in Mengen von 400 bis 800, insbesondere von 450 bis 750 Einheiten β -Glucanase je Hektoliter Gärungsansatz den jeweiligen Gärungsansätzen zugemischt.

[0015] Die Einheiten werden dabei nach BGX (units of Beta Glucanase-according industry standard) gemessen. Eine BGX-Einheit bezeichnet die Menge an Enzym, die innerhalb von einer Minute 1 μ mol von reduzierendem Zucker (Glukose) aus Glukan erzeugt. Dabei ist das Substrat Beta-Glukan aus Botrytis cinerea (10 g/l), die Temperatur 30°C, der pH-Wert 4,40 und die Inkubationszeit 10 Minuten. Nach 10 Minuten folgt der Inkubation (1 ml Substrat + 1 ml verdünntes Enzym) werden 2 ml DNS (Dinitrosalicylsäure) zugesetzt und für 10 Minuten gekocht. Nach dem Abkühlen wird die Farbintensität bei 540 nm gemessen.

[0016] Bei Sekt oder Schaumwein aus Rotwein kann das Enzym mit β -Glucanaseaktivität in Mengen bis zu 1000 Einheiten β -Glucanase pro Hektoliter zugemischt werden.

[0017] Vorzugsweise wirkt das Enzym mit β -Glucanaseaktivität bei der Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Sektherstellung mindestens 2 - 3

Wochen auf den Gärungsansatz ein. Der Grundwein für die Sektgärung wird in üblicher Weise hergestellt. Eventuell eingesetzte Bentonitpräparate werden abgetrennt. Danach wird die benötigte Menge Enzym mit β -Glucanaseaktivität in Grundwein gelöst und bei Tankgärung dem Tankinhalt direkt beigemischt. Die Behandlungstemperatur sollte vorzugsweise über 10 °C liegen. Die Einwirkungszeit des erfindungsgemäßen Enzympräparates bei 15 -19 °C beträgt mindestens 2 - 3 Wochen, bei rotem Sekt kann auch 2 - 4 Wochen inkubiert werden.

[0018] Das erfindungsgemäße Verfahren kann bei allen für die Sektherstellung geläufigen und weinrechtlich zugelassenen Gärungsverfahren angewendet werden. Darüber hinaus können allgemein Schaumweine, Perlweine, weinähnliche Gärungsgetränke, wie z. B. Cidre, erfindungsgemäß behandelt werden.

[0019] Die durch das erfindungsgemäße Verfahren erhältlichen Gärungsgetränke neigen nicht mehr zum Gushing. Damit handelt es sich um neuartige Gärungsgetränke mit unerwarteten Eigenschaften. Diese Gärungsgetränke sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Patentansprüche

1. Verwendung eines Enzyms mit β -Glucanase Aktivität zur Verminderung oder Vermeidung eines spontanen Überschäumens von durch Gärungsprozesse hergestellten Erzeugnissen beim Öffnen von solche Erzeugnisse enthaltenden Behältern. 30
2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Enzym eine natürlich vorkommende oder rekombinante β -Glucanase ist. 35
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei zusätzlich weitere Enzyme wie Pektinesterase, Polygalacturonase und/oder Pektinlyase eingesetzt werden. 40
4. Verfahren zur Verminderung oder Vermeidung eines spontanen Überschäumens von durch Gärungsprozesse hergestellten Erzeugnissen beim Öffnen von solche Erzeugnisse enthaltenden Behältern, wobei ein Enzym mit β -Glucanase Aktivität vor oder bei der Gärungsstufe einem Gärungsansatz zugesetzt wird und der Gärungsprozess in Gegenwart des Enzyms mit β -Glucanase Aktivität durchgeführt wird, woraufhin sich eine Aufarbeitung des durch den Gärprozess hergestellten Erzeugnisses in an sich bekannter Weise anschließt. 45 50
5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei der Gärungsprozess die Gärungsstufe von Bier umfasst. 55
6. Verfahren nach Anspruch 4, wobei der Gärungspro-

zess die zweite Gärungsstufe von Wein zu Sekt umfasst.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 4 bis 6, wobei als Enzym natürlich vorkommende oder rekombinante β -Glucanase ist. 5
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 4 bis 7, wobei neben dem Enzym mit β -Glucanaseaktivität weitere Enzyme wie Pektinesterase, Polygalacturonase und/oder Pektinlyase eingesetzt werden. 10
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 4 bis 8, wobei das Enzym mit β -Glucanaseaktivität in Mengen von 400 bis 800 Einheiten β -Glucanase, gemessen nach BGX (units of Beta Glucanase-according industry standard) den jeweiligen Gärungsansätzen zugemischt werden. 15
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 4 bis 9, wobei zur Sektherstellung das Enzym mit β -Glucanaseaktivität mindestens 2 - 3 Wochen auf den Gärungsansatz einwirkt. 20
11. Gärungsgetränk erhältlich durch ein Verfahren nach einem der Ansprüche 4 bis 10. 25



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 01 11 4117

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
A,D	WO 98 03627 A (DELCOUR JAN ;COPPENS THEO (BE); ISERENTANT DIRK (BE); CARGILL FRAN) 29. Januar 1998 (1998-01-29) * Seite 1, Zeile 15 - Seite 2, Zeile 29; Anspruch 12 * * Seite 3, Zeile 21 - Zeile 25 * * Seite 4, Zeile 20 - Zeile 25 * * Seite 4, Zeile 28 - Seite 5, Zeile 6 * * Seite 12, Zeile 29 - Seite 13, Zeile 13 * ---	1,2,4-7, 11	C12C11/00 C12G1/022 C12N9/00
A	WO 97 32014 A (KAUPPINEN MARKUS SAKARI ;NOVONORDISK AS (DK); ANDERSEN LENE NONBOE) 4. September 1997 (1997-09-04) * Seite 1, Zeile 5 - Zeile 10 * * Seite 19, Zeile 30 - Zeile 37; Ansprüche 24,27 * ---	1,3-6,8, 11	
A,D	ENKENLUND J: "Externally added beta-glucanase." PROCESS BIOCHEMISTRY 1972 A/S GRINDSTEDVAERKET, BRABRAND, DENMARK, Bd. 7, Nr. 8, Seiten 27-29, XP000982885 * Seite 27, linke Spalte, Absatz 2 * * Seite 29, mittlere Spalte, Absatz 1 * ---	1,4,5,11	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7) C12C C12G C12N
A,D	HINCHLIFFE E: ".Nb-Glucanase: the successful application of genetic engineering." JOURNAL OF THE INSTITUTE OF BREWING 1985 RES. DEP., BASS PLC, 137 HIGH STREET, BURTON-ON-TRENT, DE14 1JZ, UK, Bd. 91, Nr. 6, Seiten 384-389, XP000982862 * Seite 384, linke Spalte, Absatz 4 * --- -/--	1,2,4	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	
DEN HAAG	25. Oktober 2001	Charles, D	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument --- & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

EPO FORM 1503 03 82 (P04C03)



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 01 11 4117

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.7)
A	US 4 886 672 A (DE BAYNAST DE SEPTFONTAINES RE ET AL) 12. Dezember 1989 (1989-12-12) * Spalte 1, Zeile 7 - Zeile 9 * * Spalte 2, Zeile 9 - Zeile 29 * -----	1,3	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int.Cl.7)
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 25. Oktober 2001	Prüfer Charles, D
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

EPO FORM 1503 03/82 (P04003)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 01 11 4117

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

25-10-2001

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9803627 A	29-01-1998	AU 731881 B2	05-04-2001
		AU 3615497 A	10-02-1998
		WO 9803627 A1	29-01-1998
		BR 9710399 A	11-01-2000
		CA 2259324 A1	29-01-1998
		EP 0918844 A1	02-06-1999
		JP 2000516803 T	19-12-2000
		US 2001001673 A1	24-05-2001
WO 9732014 A	04-09-1997	AU 727785 B2	21-12-2000
		AU 2090997 A	16-09-1997
		CA 2246732 A1	04-09-1997
		CN 1212011 A	24-03-1999
		WO 9732014 A1	04-09-1997
		EP 0885296 A1	23-12-1998
		JP 2000505303 T	09-05-2000
		US 6242237 B1	05-06-2001
US 4886672 A	12-12-1989	FR 2601036 A1	08-01-1988
		AT 83011 T	15-12-1992
		CA 1331357 A1	09-08-1994
		DE 3782884 D1	14-01-1993
		DE 3782884 T2	08-04-1993
		DK 63988 A	08-02-1988
		EP 0256899 A1	24-02-1988
		ES 2038193 T3	16-07-1993
		WO 8800243 A1	14-01-1988
		GR 3006584 T3	30-06-1993

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82